

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner  
US Department of Commerce  
United States Patent and Trademark  
Office, PCT  
2011 South Clark Place Room  
CP2/5C24  
Arlington, VA 22202  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 04 May 2001 (04.05.01)	
International application No. PCT/DE00/02258	Applicant's or agent's file reference PCT/MDC9912
International filing date (day/month/year) 12 July 2000 (12.07.00)	Priority date (day/month/year) 15 July 1999 (15.07.99)
Applicant LEONHARDT, Heinrich et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

07 February 2001 (07.02.01)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer Antonia Muller Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	--

## PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference PCT/MDC9912	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/DE00/02258	International filing date (day/month/year) 12 July 2000 (12.07.00)	Priority date (day/month/year) 15 July 1999 (15.07.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 38/00		
Applicant MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 1 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☒ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 07 February 2001 (07.02.01)	Date of completion of this report 19 October 2001 (19.10.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE00/02258

## I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:\*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:  
pages \_\_\_\_\_ 1-5 \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☒ the claims:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_ 1-6 \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_ 14 August 2001 (14.08.2001)
- ☐ the drawings:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.  
These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE00/02258

## III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☒ claims Nos. 3-6

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. \_\_\_\_\_  
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

**SEE SEPARATE SHEET**

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. \_\_\_\_\_  
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

- ☐ the claims, or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so inadequately supported  
by the description that no meaningful opinion could be formed.

- ☐ no international search report has been established for said claims Nos. \_\_\_\_\_

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

- ☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.
- ☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/DE 00/02258

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III

Claims 3-6 relate to a subject matter which, in the opinion of this Authority, is covered by PCT Rule 67.1(iv). Therefore, a report as to the industrial applicability if the subject matter of these claims is not carried out (PCT Article 34(4)(a)(i)).

**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1-6	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-6	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1, 2	YES
	Claims		NO

**2. Citations and explanations****1. Reference is made to the following documents:**

D1: WO-A-98/32866 (MARIE CURIE CANCER CARE), 30 July 1998 (1998-07-30)

D2: WO-A-97/05265 (O'HARE ET AL.), 13 February 1997 (1997-02-13).

2. D1 claims a fusion polypeptide containing an amino acid sequence of the transport function of the viral protein VP22 and, *inter alia*, a protein for controlling the cell cycle, wherein this - for example, human - protein can induce or suppress apoptosis (Claims 1-4, page 9, lines 27-34). The fusion protein can be used, for example, to treat degenerate nerve cells.

D2 describes transport proteins, principally VP22, the bonding of molecules thereto and the possible applications thereof, for example, the transport of a tumour-specific antigen for inducing a T-cell response (claims; page 22-27, discussion).

Since none of the available documents discloses the combination of VP22 and SV40 T-antigen or viral cyclin and the use thereof for the regeneration or cultivation of

cells, Claims 1-6 can be considered novel (PCT Article 33(2)).

3. The problem addressed by the present invention can be considered that of finding a way in which to stimulate terminally differentiated cells so that they divide once again, in order to accelerate the regeneration of damaged tissue.

Claims 1 and 2 appear to involve an inventive step, since the available literature contains no suggestion as to the special combination of VP22 and the SV40 T-antigen or viral cyclin.

Claims 3-6 were examined with respect to the effect of the agent as a further therapeutic application. Since the use of a fusion protein according to Claims 1 and 2 to produce a medicine is neither taught nor suggested in D1 or D2 either for the regeneration of heart tissue or for nerve cells, or for the cultivation of terminally differentiated cells, the solution given in the aforementioned claims appears to be inventive.

4. The PCT Contracting States do not have uniform criteria for assessing the industrial applicability of Claims 3-6 in their present form. Patentability may also depend on the wording of the claims. The EPO, for example, does not recognise the industrial applicability of claims to the medical use of a compound; it does, however, allow claims to the first medical use of a known compound or to the use of such a compound in the manufacture of a drug for a new medical application.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE 00/02258

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: VI

Certain published documents (PCT Rule 70.10)

Patent No.	Publication date	Filing date	Priority date
WO 00/61617	19.10.2000	12.4.2000	12.4.1999



# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

REC'D 23 OCT 2001

WIPO

PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)


Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>PCT/MDC9912</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/DE00/02258</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>12/07/2000</b>	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>15/07/1999</b>
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK <b>A61K38/00</b>		
Anmelder <b>MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN et al.</b>		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
  - ☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt 1 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☒ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☒ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  <b>07/02/2001</b>	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  <b>19.10.2001</b>
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   <b>Europäisches Patentamt</b> <b>D-80298 München</b> <b>Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d</b> <b>Fax: +49 89 2399 - 4465</b>	Bevollmächtigter Bediensteter  <b>Markopoulos, E</b>  <b>Tel. Nr. +49 89 2399 8658</b>



**I. Grundlage des Berichts**

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):  
**Beschreibung, Seiten:**

1-5                      ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-6                      mit Telefax vom                      14/08/2001

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,                      Seiten:
- ☐ Ansprüche,                      Nr.:
- ☐ Zeichnungen,                      Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit**

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- ☐ die gesamte internationale Anmeldung.
- ☒ Ansprüche Nr. 3-6 in Bezug auf gewerbliche Anwendbarkeit.

Begründung:

- ☒ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. 3-6 beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):  
**siehe Beiblatt**
- ☐ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie hierzu nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
- ☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.
- ☐ Für die obengenannten Ansprüche Nr. wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.
2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:
- ☐ Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.
- ☐ Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. Feststellung

# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/02258

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-6
	Nein: Ansprüche	-
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-6
	Nein: Ansprüche	-
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1, 2
	Nein: Ansprüche	-

2. Unterlagen und Erklärungen  
siehe Beiblatt

## VI. Bestimmte angeführte Unterlagen

1. Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)

und / oder

2. Nicht-schriftliche Offenbarungen (Regel 70.9)

siehe Beiblatt

**Zu Punkt III**

**Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit**

Die Ansprüche 3-6 beziehen sich auf einen Gegenstand, der nach Auffassung dieser Behörde unter die Regel 67.1 (iv) PCT fällt. Daher wird über die gewerbliche Anwendbarkeit des Gegenstands dieser Ansprüche kein Gutachten erstellt (Artikel 34(4) a) (i) PCT).

**Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

- D1: WO 98 32866 A (MARIE CURIE CANCER CARE) 30. Juli 1998 (1998-07-30)
- D2: WO 97 05265 A (O'HARE ET AL.) 13. Februar 1997 (1997-02-13)

2. D1 beansprucht ein Fusionspolypeptid enthaltend eine Aminosäuresequenz der Transportfunktion des viralen Proteins VP22 und u.a. ein Protein zur Kontrolle des Zellzyklus, wobei dieses -beispielsweise humane- Protein Apoptose induzieren oder unterdrücken kann (Ansprüche 1-4; S. 9, Z. 27-34). Das Fusionsprotein kann z.B. zur Behandlung degenerierter Nervenzellen eingesetzt werden.

D2 beschreibt Transportproteine, vor allem VP22, die Anbindung von Molekülen daran und die Applikationsmöglichkeiten hiervon, beispielsweise den Transport eines tumorspezifischen Antigens zur Induktion einer T-Zell-Antwort (Ansprüche; S. 22 - 27, Diskussion).

Da keines der vorliegenden Dokumente die Kombination VP22 und SV40 T-Antigen bzw. virales Zyklin und deren Anwendung zur Regeneration bzw. Kultivierung von Zellen offenbart, können die Ansprüche 1-6 als neu anerkannt werden (Art. 33(2) PCT).

3. Die mit der vorliegenden Erfindung zu lösende Aufgabe kann darin gesehen werden, eine Möglichkeit zu finden, um terminal differenzierte Zellen wieder zur Teilung anzuregen, sodaß geschädigtes Gewebe schneller regenerieren kann.

Die Ansprüche 1 und 2 erscheinen auf erfinderischer Tätigkeit zu beruhen, da es keinen Hinweis auf die spezielle Kombination von VP22 und dem SV40 T-Antigen bzw. viralen Zyklin in der vorliegenden Literatur gibt.

Die Ansprüche 3-6 wurden in Bezug auf die Wirkung des Mittels als weitere therapeutische Anwendung geprüft. Da die Anwendung eines Fusionsproteins nach den Ansprüchen 1 und 2 zur Herstellung eines Medikamentes weder zur Regeneration von Herzwewebe noch von Nervenzellen noch zur Kultivierung von terminal differenzierten Zellen in D1 und D2 gelehrt oder angegeben wird, erscheint die Lösung der oben erwähnten Ansprüche erfinderisch zu sein.

4. Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände der vorliegenden Ansprüche 3-6 gewerblich anwendbar sind, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind.

#### **Zu Punkt VI**

#### **Bestimmte angeführte Unterlagen**

#### **Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)**

Anmelde Nr. , Patent Nr.	Veröffentlichungsdatum (Tag/Monat/Jahr)	Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)	Prioritätsdatum (zu Recht beansprucht) (Tag/Monat/Jahr)
WO 00 61617	19. Oktober 2000	12 April 2000	12 April 1999

~~neu~~ *Anspruch 212*

6

### Patentansprüche

1. Mittel zur Gewebsregeneration, umfassend ein Fusionsprotein aus dem viralen Protein VP22 mit einem die Proliferation von Zellen induzierenden SV40 T-Antigen.
2. Mittel zur Gewebsregeneration, umfassend ein Fusionsprotein aus dem viralen Protein VP22 mit einem die Proliferation von Zellen induzierenden viralen Zyklin
3. Verwendung des Mittels nach Anspruch 1 oder 2 zur Regeneration von infarktgeschädigtem Herzgewebe
4. Verwendung des Mittels nach Anspruch 1 oder 2 zur Regeneration von Nervenzellen
5. Verwendung des Mittels nach Anspruch 1 oder 2 zur Kultivierung von terminal differenzierten Zellen
6. Verwendung des Mittels nach Anspruch 5 zur ex vivo Kultivierung von z. B. Kardiomyozyten mit nachfolgender Re-implantation

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESSENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>PCT/MDC 9912</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/DE 00/02258</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>12/07/2000</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>15/07/1999</b>
Anmelder  <b>MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN et al.</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 4 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in Schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☒ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. \_\_\_\_\_

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☒ keine der Abb.



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 00/02258

<b>A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES</b> IPK 7 A61K38/16 C07K19/00 C07K14/035 C07K14/025		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
<b>B. RECHERCHIERTE GEBIETE</b> Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 C07K A61K		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) CHEM ABS Data, BIOSIS, EPO-Internal		
<b>C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN</b>		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
E	WO 00 61617 A (MODEX THERAPEUTIQUES) 19. Oktober 2000 (2000-10-19) das ganze Dokument ---	1-9
X	WO 98 32866 A (MARIE CURIE CANCER CARE) 30. Juli 1998 (1998-07-30) Seite 9, Zeile 28 - Zeile 34; Ansprüche 1-4 ---	1,2,7
A	WO 97 05265 A (O'HARE ET AL.) 13. Februar 1997 (1997-02-13) das ganze Dokument --- -/--	1
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : 'A' Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist 'E' älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist 'L' Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) 'O' Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht 'P' Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist 'T' Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist 'X' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden 'Y' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist '&' Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 29. Januar 2001		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts 09/02/2001
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Skelly, J

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH GEGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	G. ELLIOTT ET AL.: "Intercellular trafficking and protein delivery by a herpesvirus structural protein" CELL, Bd. 88, 1997, Seiten 223-233, XP000961185 in der Anmeldung erwähnt Seite 231, Spalte 1, Absatz 2 ---	1
A	A. PHELAN ET AL.: "Intercellular delivery of functional p53 by the herpesvirus protein VP22" NATURE BIOTECHNOLOGY, Bd. 16, 1998, Seiten 440-443, XP000979081 Seite 443, Spalte 1, Absatz 3 ---	1
A	M. DILBER ET AL.: "Intercellular delivery of thymidine kinase prodrug activating enzyme by the herpes simplex virus protein VP22" GENE THERAPY, Bd. 6, Nr. 1, 1999, Seiten 12-21, XP000979082 Seite 17 -Seite 18 ---	1
X,P	W. DERER ET AL.: "Direct protein transfer to terminally differentiated cells" J. MOL. MED., Bd. 77, 1999, Seiten 609-613, XP000979085 das ganze Dokument -----	1,8,9

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 00/02258

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 0061617	A	19-10-2000	NONE		
<hr/>					
WO 9832866	A	30-07-1998	AU	5674998 A	18-08-1998
			EP	0961829 A	08-12-1999
			US	6017735 A	25-01-2000
<hr/>					
WO 9705265	A	13-02-1997	AU	705563 B	27-05-1999
			AU	6623996 A	26-02-1997
			BR	9610058 A	27-07-1999
			CA	2227786 A	13-02-1997
			CN	1208438 A	17-02-1999
			EP	0845043 A	03-06-1998
			JP	11510386 T	14-09-1999
<hr/>					

(12) NACH DEM VEREINBAR ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
25. Januar 2001 (25.01.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/05418 A2**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: A61K 38/00

CARDOSO, M., Cristina [DE/DE]; Chausseestrasse 17,  
D-10115 Berlin (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/02258

(22) Internationales Anmeldedatum:  
12. Juli 2000 (12.07.2000)

(74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; Robert-Rössle-Strasse 10,  
D-13125 Berlin (DE).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): JP, US.

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): europäisches Patent (AT,  
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,  
NL, PT, SE).

(30) Angaben zur Priorität:  
199 33 089.1 15. Juli 1999 (15.07.1999) DE

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von  
US*): MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKU-  
LARE MEDIZIN [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10,  
D-13125 Berlin (DE).

**Veröffentlicht:**

— Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu  
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

(72) Erfinder; und

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen  
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on  
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe  
der PCT-Gazette verwiesen.

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): LEONHARDT, Hein-  
rich [DE/DE]; Chausseestrasse 17, D-10115 Berlin (DE).

(54) Title: TISSUE REGENERATING AGENT

(54) Bezeichnung: MITTEL ZUR GEWEBSREGENERATION

(57) Abstract: The invention relates to a tissue regenerating agent. The inventive agent is used in the field of medicine and in the pharmaceutical field. The aim of the invention is to provide a novel agent for the regeneration of tissue. To this end, a fusion protein is produced that induces the cells of damaged tissue to temporarily proliferate, thereby effecting the regeneration of the tissue. The inventive tissue regenerating agent comprises an agent that contains a fusion protein derived from a protein or a peptide sequence that effects the uptake in the cells, and a protein that induces the proliferation of cells. Preferably, a fusion protein derived from the viral VP22 protein and the SV40 T antigen is used.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Mittel zur Gewebsregeneration. Anwendungsgebiete dieses Mittels sind die Medizin und die pharmazeutische Industrie. Das Ziel der Erfindung besteht darin, ein neues Mittel zur Gewebsregeneration bereitzustellen. Ihr liegt die Aufgabe zugrunde, ein Fusionsprotein aufzubauen, welches Zellen aus geschädigten Geweben vorübergehend zur Proliferation anregt und damit die Gewebsregeneration bewirkt. Das erfindungsgemäße Mittel zur Gewebsregeneration umfaßt ein Mittel enthaltend ein Fusionsprotein aus einem Protein oder einer Peptidsequenz, die die Aufnahme in Zellen bewirkt, und einem die Proliferation von Zellen induzierenden Protein. Bevorzugt ist ein Fusionsprotein aus dem viralen VP22 Protein mit dem SV40 T-antigen.

WO 01/05418 A2

## Mittel zur Gewebsregeneration

Die Erfindung betrifft ein Mittel zur Gewebsregeneration. Anwendungsgebiete dieses Mittels sind die Medizin und die pharmazeutische Industrie.

Mehrere Gewebe und Organe des Menschen bestehen im wesentlichen aus terminal differenzierten Zellen. Hierzu zählen unter anderem die Nervenzellen des Gehirns und die Kardiomyozyten des Herzens. Diese Zellen sind terminal differenziert, d.h. teilen sich nicht mehr und können auch nicht zur Proliferation angeregt werden. Dies bedeutet, daß beschädigte oder gar abgestorbene Zellen nicht durch proliferierende, benachbarte Zellen, wie zum Beispiel bei der Wundheilung, ersetzt werden können. Wenn z. B. bei einer Verstopfung der Koronarien Kardiomyozyten nicht ausreichend mit Sauerstoff versorgt werden (Herzinfarkt), sterben betroffene Zellen ab und werden nicht durch neue Kardiomyozyten, sondern durch fibrotische Gewebe ersetzt, was zu dramatischen Funktionseinschränkungen des Herzmuskels führen kann. Diese koronaren Herzerkrankungen (KHK) sind eine der häufigsten Erkrankungen des Herzens.

Derzeit gibt es keine Therapiemöglichkeiten, die direkt die Ursachen behandeln, sondern nur Versuche, die Folgen des Herzinfarktes zu begrenzen. Bei schweren Fällen bleibt als letzte Option nur noch die Herztransplantation. Ziel dieser Erfindung ist es nun, terminal differenzierte Zellen wieder zur Teilung anzuregen, so daß sie zur Regeneration von geschädigtem, benachbarten Gewebe beitragen können.

Prinzipiell können terminal differenzierte Zellen durch Tumurviren zur Proliferation angeregt werden. Dabei kommt es aber leider zu einer irreversiblen Transformation der Zellen, d.h. eine terminal differenzierte und funktionstüchtige Kardiomyozyte wird dabei zu einer unkontrolliert wachsenden Krebszelle mutiert, die zudem die Herzmuskelfunktionen verloren hat. Dieser Ansatz ist daher für therapeutische Zwecke nicht geeignet.

Kürzlich wurde ein virales Protein, VP22 aus Herpes Simplex, beschrieben, das von infizierten Zellen exportiert und von Nachbarzellen wieder aufgenommen wird. Der genaue Mechanismus ist noch unbekannt. Der Transportprozess ist jedoch unabhängig von direkten Zell-Zell-Kontakten. Mit dem viralen Protein können auch angehängte Fremdproteine transportiert werden. (Elliott G and O'Hare P (1997) Intercellular trafficking and protein delivery by a herpesvirus structural protein. Cell 88: 223-233).

Die Erfindung hat das Ziel, ein neues Mittel zur Gewebsregeneration bereitzustellen. Ihr liegt die Aufgabe zugrunde, ein Fusionsprotein aufzubauen, welches Zellen aus geschädigten Geweben vorübergehend zur Proliferation anregt und damit die Gewebsregeneration bewirkt.

Diese Aufgabe wird mit den in den Ansprüchen dargestellten Maßnahmen gelöst.

Das erfindungsgemäße Mittel zur Gewebsregeneration umfaßt ein Mittel enthaltend ein Fusionsprotein aus einem Protein oder einer Peptidsequenz, die die Aufnahme in Zellen bewirkt, und einem die Proliferation von Zellen induzierenden Protein. Bevorzugt ist ein Fusionsprotein aus dem viralen VP22 Protein mit dem SV40 T-antigen. Aufgrund seiner vielfältigen Funktionen, die die Zellproliferation erzwingen und Apoptose verhindern, ist das SV40 T-antigen besonders für diese Aufgabe geeignet. Alternativ können T-antigen verwandte Proteine oder virale Zykline verwendet werden. Zu diesen

Zyklinen zählen die K- und V-Zykline des Herpesvirus. Diese Zykline werden nicht durch die Zellzyklusinhibitoren der Zelle inhibiert und können damit ungehindert die Proliferation induzieren.

Der zweite Teil der Aufgabe besteht darin, nur vorübergehend eine Proliferation zu induzieren. Nach wenigen Zellzyklen sollen die Zellen in den terminal differenzierten Ausgangszustand zurückkehren und ihre angestammte Funktion ausüben. Diese Aufgabe wird mit dem erfindungsgemäßen Mittel dadurch gelöst, daß das Mittel ein Protein ist, das sich nicht replizieren kann und von proteolytischen Enzymen abgebaut wird. Die Stabilität des Fusionsproteins kann künstlich durch den Einbau von stabilisierenden oder destabilisierenden Peptiden nach Bedarf verändert werden. Dieser Ansatz vermeidet damit irreversible genetische Veränderungen und Transformationen der Zelle, die zwangsläufig bei DNA-basierten Methoden auftreten würden.

Die Verwendung dieses Mittels erfolgt bestimmungsgemäß zur Regeneration von infarktgeschädigtem Herzgewebe und zur Regeneration von verletzungs- oder krankheitsgeschädigtem Nervengewebe. Das Mittel wird in die geschädigten Bereiche injiziert und dort von den benachbarten Zellen aufgenommen. Diese Zellen werden zur Proliferation angeregt, ersetzen die abgestorbenen Zellen und bewirken somit die Gewebsregeneration.

Das Mittel wird weiterhin auch bestimmungsgemäß zur Kultivierung von terminal differenzierten Zellen eingesetzt. Terminal differenzierte Zellen, wie z.B. Nervenzellen und Kardiomyozyten, können zwar ex vivo kultiviert werden aber sie proliferieren nicht und können damit nicht zu Reimplantations- oder Forschungszwecken vermehrt werden. Das erfindungsgemäße Mittel wird nach Zugabe zu dem Kulturmedium von den Zellen aufgenommen und bewirkt dann die Proliferation, d.h. Vermehrung dieser Zellen. Dabei kann je nach Bedarf die Dosierung und Zeitdauer der Behandlung

bestimmt werden. Wenn das Mittel wieder abgesetzt wird, differenzieren die Zellen wieder und können entweder reimplantiert oder zu Forschungszwecken eingesetzt werden. Es wurde gezeigt, daß das erfindungsgemäße Mittel in terminal differenzierten Skelettmuskelzellen (Myotuben) S-Phase induzieren kann

Die Erfindung soll nachfolgend durch ein Ausführungsbeispiel näher erläutert werden.

#### Ausführungsbeispiel

Das VP22 (UL49) Gen wird mit PCR aus dem Herpes Simplex Virusstamm Angelotti mit Primern amplifiziert, die den offenen Leserahmen flankieren und das Stopcodon entfernen. An den Enden dieser Primer werden BamHI und XmaI Restriktionsstellen angefügt, mit denen das PCR-Produkt direkt in einen Expressionsvektor (pEVRF, Matthias et al., 1989) kloniert werden kann. Das T-antigen Gen wird analog mittels PCR aus der SV40 DNA amplifiziert. Bei den verwendeten Primern wird jedoch eine XmaI und eine XbaI Restriktionsstelle angehängt. Das PCR-Produkt wird damit in den Expressionsvektor am C-terminalen Ende des VP22 Gens eingefügt. Im letzten Klonierungsschritt wird am C-terminalen Ende des T-antigen Gens, in der XbaI Stelle, ein Oligonukleotid eingefügt, das 6 Histidinreste (His-Tag) und ein Stopkodon kodiert. Das Endprodukt ist ein Fusionsgen bestehend aus dem VP22 Gen, dem T-antigen und einem His-Tag. Das Fusionsgen wird mit dem CMV Promoter des Expressionsvektors transkribiert und mit dem Translationssignal des Tk-Gens translatiert.

Mit diesem Expressionsvektor werden COS-7 Zellen wie zuvor beschrieben transfiziert (Leonhardt et al., 1992). Das Fusionsprotein wird aufgrund der Transporteigenschaften von VP22 aus den Wirtszellen in das Medium exportiert. Das so konditionierte Kulturmedium der transfizierten COS-Zellen wird kontinuierlich über eine Affinitätssäule (TALON, Clontech, Palo Alto, USA) gepumpt, die Fusionsproteine mit



einem Histidin-Tag spezifisch bindet. Diese Affinitätssäulen werden nach den Angaben des Herstellers verwendet. Das Fusionsprotein kann dann spezifisch mit Imidazol eluiert werden und mittels FPLC (Ionenaustauschsäulen) weiter aufgereinigt werden. Das gereinigte Fusionsprotein wird gegen physiologische Kochsalzlösung dialysiert und mittels Katether über die Koronararterien direkt in den Herzmuskel appliziert. Alternativ kann das Fusionsprotein direkt und lokal in das ischämische Herzmuskelgewebe injiziert werden.

#### Literatur

Elliott G and O'Hare P (1997) Intercellular trafficking and protein delivery by a herpesvirus structural protein. Cell 88: 223-233.

Leonhardt H, Page AW, Weier HU et al (1992) A targeting sequence directs DNA methyltransferase to sites of DNA replication in mammalian nuclei. Cell 71: 865-873

Matthias, P, Müller, M M, Schreiber, E, Rusconi, S and Schaffner, W. (1989) Eukaryotic expression vectors for the analysis of mutant proteins. Nucl. Acids Res. 17, 6418.

**Patentansprüche**

1. Mittel zur Gewebsregeneration, umfassend ein Fusionsprotein aus einem Protein oder einer Peptidsequenz, die die Aufnahme in Zellen bewirkt, und einem die Proliferation von Zellen induzierenden Protein
2. Mittel zur Gewebsregeneration, umfassend ein Fusionsprotein aus dem viralen Protein VP22 mit einem die Proliferation von Zellen induzierenden Protein
3. Mittel zur Gewebsregeneration, umfassend ein Fusionsprotein aus einem Protein oder einer Peptidsequenz, die die Aufnahme in Zellen bewirkt, mit dem SV40 T-Antigen.
4. Mittel nach Anspruch 1, umfassend ein Fusionsprotein aus dem viralen Protein VP22 mit dem SV40 T-Antigen
5. Mittel nach Anspruch 1, umfassend ein Fusionsprotein aus dem viralen Protein VP22 mit einem viralen Zyklin
6. Verwendung des Mittels nach Anspruch 1-5 zur Regeneration von infarktgeschädigtem Herzgewebe
7. Verwendung des Mittels nach Anspruch 1-5 zur Regeneration von Nervenzellen
8. Verwendung des Mittels nach Anspruch 1-5 zur Kultivierung von terminal differenzierten Zellen
9. Verwendung des Mittels nach Anspruch 8 zur ex vivo Kultivierung von z. B. Kardiomyozyten mit nachfolgender Re-implantation

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
25. Januar 2001 (25.01.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 01/05418 A3

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: A61K 38/16, CARDOSO, M., Cristina [DE/DE]; Chausseestrasse 17, D-10115 Berlin (DE).  
C07K 19/00, 14/035, 14/025
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/02258 (74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).
- (22) Internationales Anmeldedatum: 12. Juli 2000 (12.07.2000) (81) Bestimmungsstaaten (*national*): JP, US.
- (25) Einreichungssprache: Deutsch (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 199 33 089.1 15. Juli 1999 (15.07.1999) DE Veröffentlicht:  
— mit internationalem Recherchenbericht
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE). (88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 19. Juli 2001
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): LEONHARDT, Heinrich [DE/DE]; Chausseestrasse 17, D-10115 Berlin (DE).
- Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: TISSUE REGENERATING AGENT

(54) Bezeichnung: MITTEL ZUR GEWEBSREGENERATION

(57) Abstract: The invention relates to a tissue regenerating agent. The inventive agent is used in the field of medicine and in the pharmaceutical field. The aim of the invention is to provide a novel agent for the regeneration of tissue. To this end, a fusion protein is produced that induces the cells of damaged tissue to temporarily proliferate, thereby effecting the regeneration of the tissue. The inventive tissue regenerating agent comprises an agent that contains a fusion protein derived from a protein or a peptide sequence that effects the uptake in the cells, and a protein that induces the proliferation of cells. Preferably, a fusion protein derived from the viral VP22 protein and the SV40 T antigen is used.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Mittel zur Gewebsregeneration. Anwendungsgebiete dieses Mittels sind die Medizin und die pharmazeutische Industrie. Das Ziel der Erfindung besteht darin, ein neues Mittel zur Gewebsregeneration bereitzustellen. Ihr liegt die Aufgabe zugrunde, ein Fusionsprotein aufzubauen, welches Zellen aus geschädigten Geweben vorübergehend zur Proliferation anregt und damit die Gewebsregeneration bewirkt. Das erfindungsgemäße Mittel zur Gewebsregeneration umfaßt ein Mittel enthaltend ein Fusionsprotein aus einem Protein oder einer Peptidsequenz, die die Aufnahme in Zellen bewirkt, und einem die Proliferation von Zellen induzierenden Protein. Bevorzugt ist ein Fusionsprotein aus dem viralen VP22 Protein mit dem SV40 T-antigen.

WO 01/05418 A3

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intel. Application No  
PCT/DE 00/02258

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K38/16 C07K19/00 C07K14/035 C07K14/025

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

CHEM ABS Data, BIOSIS, EPO-Internal

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	WO 00 61617 A (MODEX THERAPEUTIQUES) 19 October 2000 (2000-10-19) the whole document ---	1-9
X	WO 98 32866 A (MARIE CURIE CANCER CARE) 30 July 1998 (1998-07-30) page 9, line 28 - line 34; claims 1-4 ---	1,2,7
A	WO 97 05265 A (O'HARE ET AL.) 13 February 1997 (1997-02-13) the whole document --- -/--	1

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\* & \* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 January 2001

Date of mailing of the international search report

09/02/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Skelly, J

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern

Application No

PCT/DE 00/02258

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	G. ELLIOTT ET AL.: "Intercellular trafficking and protein delivery by a herpesvirus structural protein" CELL, vol. 88, 1997, pages 223-233, XP000961185 cited in the application page 231, column 1, paragraph 2 ----	1
A	A. PHELAN ET AL.: "Intercellular delivery of functional p53 by the herpesvirus protein VP22" NATURE BIOTECHNOLOGY, vol. 16, 1998, pages 440-443, XP000979081 page 443, column 1, paragraph 3 ----	1
A	M. DILBER ET AL.: "Intercellular delivery of thymidine kinase prodrug activating enzyme by the herpes simplex virus protein VP22" GENE THERAPY, vol. 6, no. 1, 1999, pages 12-21, XP000979082 page 17 -page 18 ----	1
X,P	W. DERER ET AL.: "Direct protein transfer to terminally differentiated cells" J. MOL. MED., vol. 77, 1999, pages 609-613, XP000979085 the whole document -----	1,8,9

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 00/02258

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0061617 A	19-10-2000	NONE	
WO 9832866 A	30-07-1998	AU 5674998 A EP 0961829 A US 6017735 A	18-08-1998 08-12-1999 25-01-2000
WO 9705265 A	13-02-1997	AU 705563 B AU 6623996 A BR 9610058 A CA 2227786 A CN 1208438 A EP 0845043 A JP 11510386 T	27-05-1999 26-02-1997 27-07-1999 13-02-1997 17-02-1999 03-06-1998 14-09-1999

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 A61K38/16 C07K19/00 C07K14/035 C07K14/025

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07K A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

CHEM ABS Data, BIOSIS, EPO-Internal

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
E	WO 00 61617 A (MODEX THERAPEUTIQUES) 19. Oktober 2000 (2000-10-19) das ganze Dokument ---	1-9
X	WO 98 32866 A (MARIE CURIE CANCER CARE) 30. Juli 1998 (1998-07-30) Seite 9, Zeile 28 - Zeile 34; Ansprüche 1-4 ---	1,2,7
A	WO 97 05265 A (O'HARE ET AL.) 13. Februar 1997 (1997-02-13) das ganze Dokument --- -/--	1

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*&amp;\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

29. Januar 2001

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

09/02/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Skelly, J

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	G. ELLIOTT ET AL.: "Intercellular trafficking and protein delivery by a herpesvirus structural protein" CELL, Bd. 88, 1997, Seiten 223-233, XP000961185 in der Anmeldung erwähnt Seite 231, Spalte 1, Absatz 2 ----	1
A	A. PHELAN ET AL.: "Intercellular delivery of functional p53 by the herpesvirus protein VP22" NATURE BIOTECHNOLOGY, Bd. 16, 1998, Seiten 440-443, XP000979081 Seite 443, Spalte 1, Absatz 3 ----	1
A	M. DILBER ET AL.: "Intercellular delivery of thymidine kinase prodrug activating enzyme by the herpes simplex virus protein VP22" GENE THERAPY, Bd. 6, Nr. 1, 1999, Seiten 12-21, XP000979082 Seite 17 -Seite 18 ----	1
X,P	W. DERER ET AL.: "Direct protein transfer to terminally differentiated cells" J. MOL. MED., Bd. 77, 1999, Seiten 609-613, XP000979085 das ganze Dokument -----	1,8,9



# INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, ... die zur selben Patentfamilie gehören

Intel

des Aktenzeichen

PCT/DE 00/02258

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 0061617	A	19-10-2000	KEINE		
WO 9832866	A	30-07-1998	AU	5674998 A	18-08-1998
			EP	0961829 A	08-12-1999
			US	6017735 A	25-01-2000
WO 9705265	A	13-02-1997	AU	705563 B	27-05-1999
			AU	6623996 A	26-02-1997
			BR	9610058 A	27-07-1999
			CA	2227786 A	13-02-1997
			CN	1208438 A	17-02-1999
			EP	0845043 A	03-06-1998
			JP	11510386 T	14-09-1999